

省藤组织培养的植株再生

庄承纪 周建葵

(中国科学院昆明植物研究所, 昆明650204)

PLANT REGENERATION IN TISSUE CULTURE OF RATTAN

ZHUANG Cheng-Ji, ZHOU Jian-Kui

(Kunming Institute of Botany, Academia Sinica, Kunming 650204)

关键词 省藤, 云南省藤, 倒卵果省藤, 组织培养, 植株再生

Key words Rattan, *Calamus yunnanensis*, *C. obovoideus*, Tissue culture, Plant regeneration

省藤通常指棕榈科白藤属 (*Calamus* L.) 植物, 该植物茎的商品名称藤条, 具有广泛的用途, 主要用于编织藤器、家具和各种用具及工艺品, 它是热带地区的一种经济价值很高的植物。

省藤通常用种子繁殖, 但种子数量很有限, 且容易丧失发芽力。由于热带雨林的严重破坏, 省藤的品种及数量越来越少, 有被灭绝的危险。而且, 省藤同一品种的植株之间个体差异较大, 不易得到均一的后代。棕榈科有230属约2650种, 目前只有椰子〔1—3〕、海枣〔4—6〕、油棕等〔7—8〕的组织培养获得成功, 其他少见报道。省藤属植物的组织培养, 在所查阅到的文献中, 未见有正式报告。下面报道我们用省藤两个新种: 云南省藤〔9〕和倒卵果省藤〔9〕进行组织培养研究的一部份结果。

材料与方 法

1. 植物材料 供试品种为云南省藤 (*Calamus yunnanensis* S. J. Pei et S. Y. Chen) 和倒卵果省藤 (*C. obovoideus* S. J. Pei et S. Y. Chen)。采成熟果实, 取种子用水洗干净, 吸干表面的水分, 浸于70%乙醇中30—60秒钟, 然后用0.1%氯化汞表面消毒10分钟左右, 无菌水冲洗4—5次, 将种子置于含不同附加物的培养基上萌发成幼苗, 取无菌苗的茎尖、叶鞘、叶片、叶柄及根的切段供试验。

2. 培养基和培养条件 试验过MS〔10〕、ER〔11〕、B₅〔12〕培养基, 根据实验要求, 附

加不同的植物生长调节剂, 包括 BA、ZT、IAA、NAA, 2, 4-D 等, 蔗糖浓度 3%, 琼脂 0.65%。培养基经 121℃、15 磅灭菌 15 分钟。接种后放在 25℃ ± 2℃ 的培养室中暗培养或照光培养, 每天光照 14 小时, 光强为 1000 烛光左右。

结果与讨论

1. 省藤不同组织和器官对培养的反应 云南省藤和倒卵果省藤的不同组织和器官 (包括茎尖、芽鞘、叶片、叶柄和根) 对培养的反应, 我们进行了比较试验, 实验结果见表 1。茎尖接种在 MS+1.0—2.5 mg/l BA+0.5—1.5 mg/l IAA (或 NAA) 上, 培养 3 周后, 外植体切口开始形成愈伤组织, 40 天后观察, 可见茎尖基部膨大, 同时顶端伸长, 并抽出叶鞘和心叶, 60 天左右, 茎尖基部四周逐渐形成新的芽或多芽体 (图 1), 其频率达 87.5%。接种的叶片 (包括未展开的幼嫩叶)、叶柄切段, 在 MS+0.2 mg/l BA+0.5—2.0 mg/l ZT+3 mg/l NAA+0.2 mg/l 2, 4-D 或 ER 培养基添加 10mg/l 2, 4-D 和低浓度的 KT 与 Zip, 均未诱导出愈伤组织 (少数外植体的切口有一薄层愈伤组织), 也没有器官分化。但幼嫩的芽鞘切段, 在 MS+1.0 mg/l BA+2.0 mg/l ZT+1.0 mg/l NAA 上培养 90 天后, 有少数外植体可分化出芽。在 MS-1 和 ER-1 培养基 (表 1) 上培养的根切段 (粗约 1 mm), 有的在表面产生少许愈伤组织, 有少数外植体长出 1—2 条根, 但没有芽的分化。从本实验可见, 省藤不同组织和器官之间, 植株再生能力有明显的差异, 以茎尖的分化和再生能力最强, 可形成新的芽和丛芽。两个植物种对培养的反应, 未见明显差别。

表 1 省藤不同器官和组织的培养反应

Table 1 Morphogenetic responses of different organ and tissue culture of *Calamus obovoideus*

组织或器官 Tissue or organ	培养基及激素 (毫克/升) Medium and hormones (mg/l)	接种外植体块数 No. of explant inoculated	产生芽条 Producing Shoot-buds		生根 Rooting	
			块数 No. of explant producing shootbuds	%	芽数/块 No. of shootbuds/explant	块数 No. of explant rooting
茎尖 Shoot-buds	MS+BA2.5+IAA1.0	16	14	87.5	4—5	0
芽鞘 bud sheath	MS+BA1.0+ZT2.0+NAA1.0	10	2	20.0	1—2	0
叶片切段 Leaf segments	MS-1*	20	0			0
	ER-1**	24	0			0
叶柄切段 Leaf stalk	MS-1*	20	0			0
	ER-1**	18	0			0
根切段 root segments	MS-1*	20	0			3
	ER-1**	25	0			15.0

* MS-1, MS+BA0.2+ZT0.5+NAA3.0+2, 4-D0.2

** ER-1, ER (大量) +MS (其它) +KT0.2+Zip1.0+2, 4-D10.0 培养 60 天后统计

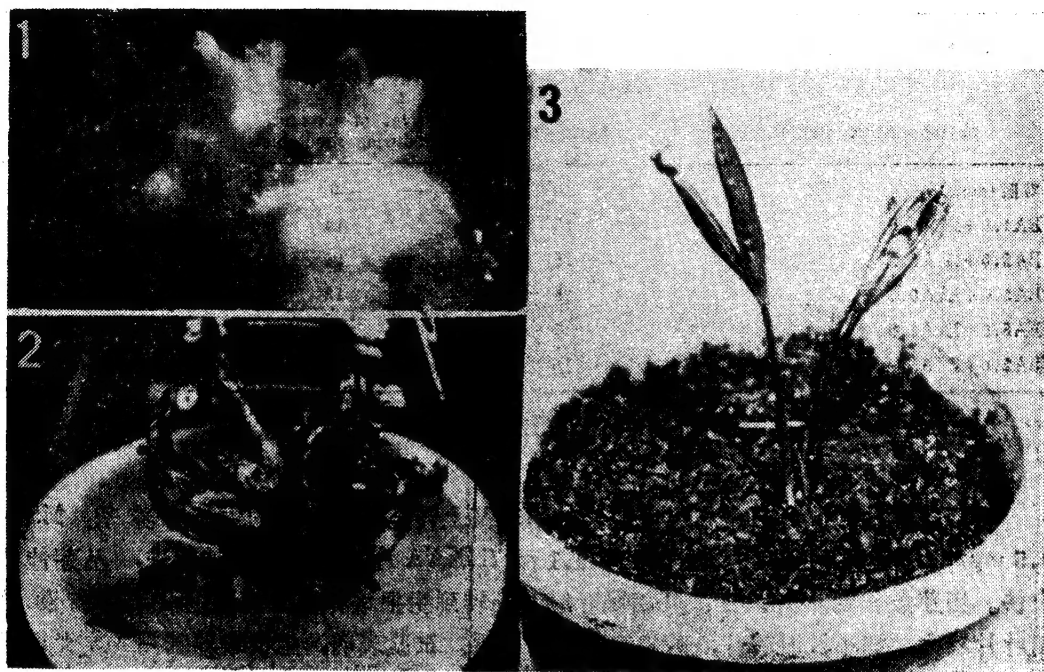


图 1 1. 由茎尖培养物形成的多芽体；2. 由单芽发育的多芽苗；3. 移栽入土的小植株。

Fig. 1 1. shoot-buds formed from shoot-tip cultures; 2. multiple shoot-buds developing from one shoot-bud; 3. plantlet of transfer to potted soil.

2. 激素对丛芽的诱导和增殖的影响

在对不同器官和组织进行培养实验的基础上，我们比较了不同激素及其各种组合对茎尖形成丛芽的影响，实验结果列于表 2。从表 2 可见，BA 和 IAA 适当组合，都可诱导产生芽或丛芽，在试验浓度范围内，随着细胞分裂素浓度的增加，明显地刺激丛芽的形成（图 1）。一般培养 60 天左右，茎尖外植体顶端伸长，并从其基部形成的质地致密的组织块上产生多芽体，平均每块外植体产生 5—7 个芽，多者可达 12 以至 17 个芽。在高浓度细胞分裂素的培养基上，芽的数量较多，但芽的长度较短。为了获得较健壮的芽条，我们在 $MS + 2 \text{ mg/l BA} + 0.5 \text{ mg/l IAA}$ 的培养基中再添加 0.5 mg/l ZT 和 0.1 mg/l NAA ，在这个培养基上既能产生一定数量的芽条，又能使芽条生长较快。在无激素的培养基上，茎尖不能产生丛芽。由此可见，激素对丛芽的形成是必要的条件，丛芽的形成和发育是受细胞分裂素与生长素的平衡所调控的。这与一些研究者〔6, 7〕在椰子、油棕组织培养中曾指出激素对植株再生的重要作用是一致的。

省藤的继代培养与增殖，一般可采用两种方法，一种是将丛芽从基部切分成单芽，转到同样的分化培养基上，经 6—7 周的培养，又能从这些芽的基部产生次级丛芽。另一种方法是把芽条基部的组织块切下，分割成 0.3—0.5 cm 的切段，接种在继代培养基上，经 2 个月后又能从组织块上产生新的芽或丛芽。一般每块外植体能增殖 4—5 个芽。

表2 植物激素对省藤茎尖培养物形成芽的影响*

Table 2 Effect of phytohormones on shoot-buds formation from shoot-tip cultures in *Calamus yunnanensis*

植 物 激 素 (毫克/升) phytohormones (mg/l)	接种外植体块数 No. of explant inoculated	产 生 芽 条 shoot-buds producing		
		块 数 No. of explant producing shoot-buds	%	芽条数/块 No. of shoot- buds/explant
对照 (none)	10	0	0	0
BA1.0+IAA0.5	15	14	93.3	2
BA2.0+IAA0.5	15	14	93.3	3
BA3.0+IAA0.5	15	13	86.6	5
BA5.0+IAA0.5	15	12	80.0	7
BA2.0+ZT0.5+IAA0.5+NAA0.1	15	13	86.6	3.5

* MS基本培养基培养60天观察。

* MS basal medium for 60 days in culture

3.小植株的发育

将芽条或丛芽从含较高细胞分裂素的培养基上转至较低浓度的生长培养基: MS+0.5 mg/l BA+0.2 mg/l KT+0.05—0.1 mg/l NAA 上, 芽的生长被促进, 丛芽伸长较快。当芽条长到5 cm以上, 开始展叶时, 则转到生根培养基上诱导生根。因省藤幼苗叶片较大, 如不及时转管, 则影响叶片的伸展。试验表明, 生根培养基用MS大量元素的半量, 并附加0.5 mg/l IBA和0.25%活性炭, 生根效果较好, 一般3—4周可生根, 生根率80%以上, 每苗2—5条根, 根肉质, 粗1 mm左右。生根后的苗即可移栽, 用镊子小心地把小苗取出试管, 注意不要把幼苗的根碰断, 用水冲去根部的培养基, 栽入含营养土的塑料袋或盆中, 置适当遮荫的地方, 喷雾保湿, 半个月后可恢复正常生长, 一批小植物已移栽成活, 生长发育正常。

棕榈科植物与木本植物一样, 分化比较困难。本研究主要采用茎尖作为外植体, 通过产生多芽体的途径, 再生大量植株, 对于省藤优良品种的快速繁殖和种质保存, 提供了一种有用的手段。

致谢 本研究承蒙陈三阳先生提供实验材料。

参 考 文 献

- 1 Eeuwens C J. *Physiol Plant* 1978, 42:173—178
- 2 Branton R L, Blake J. *Ann Bot* 1983, 52:673—678
- 3 Gupta P K, et al. *Plant Cell Reports* 1984, 3:222—225
- 4 Reuveni O. *Plant Physiol* 1979, 63:138
- 5 Zaid A, Tisserat B. *Bot Mag* 1983, 96:67—73
- 6 Tisserat B. *Hortscience* 1984, 19:230—231
- 7 Hanower J, Pannetier C., In: Fujiwara A. *Plant tissue culture*. Tokyo, 1982, 745—746
- 8 Nwankwo B A, Krikorian A D. *Ann Bot* 1983, 51:65—76
- 9 裴盛基, 陈三阳, 童绍全. *植物分类学报* 1989, 27(2):132—146
- 10 Murishige T, Skoog F. *Physiol Plant* 1962, 15:473—479
- 11 Eriksson J. *Physiol Plant* 1965, 18:976—993